

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE NEMATICIDA DAS FRAÇÕES DE *Pterocaulon angustifolium* DC. (Asteraceae)

Beatriz Pereira Moreno¹, Aline Aparecida Rodolpho de Andrade², Angélica Miamoto³,
Marta Regina Barrotto do Carmo⁴, Debora Cristina Baldoqui⁵.

¹Doutora em Química, Universidade Estadual de Maringá – UEM pereira.moreno@hotmail.com

²Aluna de graduação de Química, Universidade Estadual de Maringá – UEM Bolsista Fundação Araucária
alineeandrade70@gmail.com

³Doutoranda no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá – UEM Bolsista Capes
angelicamamoto@gmail.com

⁴Professora, Doutora, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Ponta Grossa-UEPG
colbachbio@uepg.br

⁵Orientadora, Doutora, Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá-UEM
dcbaldoqui@uem.br

RESUMO

Um dos maiores desafios da agricultura moderna é sustentar o crescimento da demanda mundial de alimentos e, simultaneamente, produzir com o menor impacto ambiental possível. Um dos fatores limitantes da produção agrícola é a infestação com nematoídeos parasitas de plantas, afetando o crescimento e a produtividade das espécies de interesse comercial. Estratégias de manejo baseadas no uso de fitoquímicos ou frações provenientes de plantas podem contribuir para o desenvolvimento de novas ferramentas químicas, que possam contribuir para o controle de nematoídeos. As espécies do gênero *Pterocaulon* apresentam diversas atividades biológicas na literatura, mas não há relatos quanto seu potencial nematicida. O extrato bruto e as frações FHEX, FDM, FAE e FBUT obtidos a partir das partes aéreas da espécie *Pterocaulon angustifolium* foram testadas frente aos nematoídeos *Meloidogyne javanica*. Os valores obtidos foram estatisticamente parecidos com os controles, sendo assim, não são indicados para o controle dos nematoídeos das galhas.

Palavras-chave: *Meloidogyne javanica*; nematoídeos das galhas; *Pterocaulon*.

1 INTRODUÇÃO

Em virtude da crescente demanda por alimentos no mundo, os fatores que ocasionam reduções nos rendimentos agrícolas, especialmente pragas e doenças, devem ser priorizados quanto aos seus estudos e controle. Em regiões tropicais, por exemplo, a presença de nematoídeos em solos de alta fertilidade ocasionam perdas ligadas diretamente ou indiretamente a estes parasitas. As perdas diretamente ligadas aos nematoídeos são aquelas que acarretam elevados prejuízos financeiros aos agricultores devido à redução nas colheitas decorrentes da limitação do crescimento e do potencial produtivo das plantas e redução na qualidade do produto colhido. As perdas indiretas incluem desperdício de água de irrigação e fertilizantes. Raízes danificadas por nematoídeos não utilizam água e fertilizantes tão eficientemente quanto raízes sadias (WESEMAEL; VIAENE; MOENS, 2011).

Segundo Decraemer e Hunt (2013), existem cerca de 4.000 espécies de nematoídeos que parasitam plantas (o que condiz com 15,0 % do total de espécies de nematoídeos conhecidas) e causam perdas substanciais nas produções agrícolas. Os nematoídeos estão amplamente distribuídos pelo mundo devido as condições ambientais e as diversas formas de disseminação, as quais possibilitam ao Filo Nematoda apresentar diversidade de espécies em diferentes ecossistemas (WESEMAEL; VIAENE; MOENS, 2011).

Praticamente, todas as espécies de plantas cultivadas sofrem danos causados por uma ou mais espécies de nematoídeos. Algumas culturas, inclusive, são hospedeiras de várias espécies. A maioria dos nematoídeos afetam, principalmente, partes subterrâneas, como raízes, bulbos, tubérculos e rizomas. Mas algumas espécies podem causar danos em partes aéreas, como caules, folhas e sementes. As produções agrícolas, quando em situação de grande infestação, são severamente afetadas, por isso a grande necessidade no controle destes nematoídeos a fim de reduzir as perdas de produtividade (RAVICHANDRA, 2014).

Os nematoides das galhas, pertencentes ao gênero *Meloidogyne*, compreendem as espécies de parasitas de plantas de maior importância agrícola pois infestam e limitam as produções agrícola anuais ou perenes, de horticultura e de plantas ornamentais nas regiões tropicais e subtropicais, atingindo mais de 2000 espécies de plantas. Esse gênero é composto por aproximadamente 100 espécies, das quais *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood, *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood, *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood e *Meloidogyne hapla* Chitwood são amplamente distribuídas em todas as regiões agrícolas do mundo, se adaptam a diversos agroecossistemas e são responsáveis por aproximadamente 90% dos danos agronômicos (NGUYEN et al., 2018).

As alternativas para controlar os nematoides podem ser usadas de maneira única ou em conjunto, como, esterilização do solo com vapor, fumigação de nematicidas sintéticos, rotação de culturas, pousio, solarização e alterações do solo ou ainda utilizando cultivares resistentes. A alta infestação de nematoides no solo obriga os produtores a usarem doses mais elevadas ou ainda, aumentam a frequência das aplicações de nematicidas como organofosfatos e carbamatos (método de controle mais utilizado), acarretando assim potenciais danos aos humanos e ao meio ambiente. Desse modo, como o manejo desse patógeno é complexo, assim como qualquer outro patógeno de solo, a busca de novas medidas de controle de nematoides é uma prioridade da agricultura sustentável (NGUYEN et al., 2018).

Nos últimos anos vem sendo realizados estudos baseados no desenvolvimento de estratégias para o controle de nematoides utilizando produtos naturais ou fitoquímicos. Essa área de estudos se baseia nas complexas interações químicas entre plantas e nematoides (interações alelopáticas). Os fitoquímicos envolvidos nas interações plantas-nematoides podem agir como repelentes, atrativos, estimulantes ou inibidores da eclosão dos ovos e nematotoxinas. (CHITWOOD, 2002). Entretanto, os fitoquímicos podem ser obtidos de diversas fontes, além das plantas, como bactérias, fungos, algas, organismos marinhos e resíduos agroindustriais.

Assim, estudos utilizando extratos ou frações de plantas ou mesmo compostos isolados que podem afetar a eclosão e mortalidade desses nematoides em testes in vitro são importantes para a descobertas de novos nematicidas (CHITWOOD, 2002). Sendo assim, uma espécie estudada em nosso laboratório é a *Pterocaulon angustifolium*. O gênero *Pterocaulon*, pertencente à família Asteraceae, comprehende aproximadamente 25 a 30 espécies e está amplamente distribuído pelas Américas e Oceania (VIANNA et al., 2012). A espécie *P. angustifolium* DC. é um subarbusto de até 70 cm de altura, nativa mas não endêmica do Brasil, se desenvolve em diversos tipos de solo, sendo encontrado nas regiões Centro-oeste, Sudeste e Sul (LIMA; MATZENBACHER, 2008). Espécies desse gênero são utilizadas na medicina tradicional no tratamento de diversas doenças, entre elas, micoses, artrite, além de acnes e picadas de insetos (MEDEIROS-NEVES; TEIXEIRA; VON POSER, 2018), mas não há o relato quanto a atividade nematicida dessas espécies, portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o extrato bruto e as frações obtidas a partir das partes aéreas de *P. angustifolium* na eclosão de juvenis de segundo estádio (J2) dos nematoides da espécie *M. javanica*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O desenvolvimento do trabalho começou pela preparação do extrato bruto utilizando as partes aéreas de *P. angustifolium*, as quais foram coletadas na região dos Campos Gerais do Paraná, Ponta Grossa-PR (809,00 g). As partes aéreas, após serem secas e moídas, foram submetidas à extração com metanol, à frio, por maceração exaustiva. Após remoção do solvente com o auxílio do concentrador de amostras Rocket Synergy da Genevac à temperatura de 35°C sob vácuo obteve-se 102,41 g do extrato bruto metanólico (EB).

O extrato bruto foi dissolvido em 700 mL de H₂O/MeOH 1:1, e posteriormente submetidos submetido à partição com cada um dos solventes orgânicos em ordem crescente de polaridade: hexano, diclorometano, acetato de etila e butanol. Após a remoção dos solventes com o auxílio do concentrador de amostras Rocket Synergy à temperatura de 35°C sob vácuo, obtiveram-se as frações hexano (FHEX, 13,11 g), diclorometano (FDM, 39,60 g), acetato de etila (FAE, 28,36 g), butanol (FBUT, 5,94 g) e hidrometanol (FHM, 4,82 g). Posteriormente ao preparo do extrato bruto e obtenção das frações a partir das partes aéreas de *P. angustifolium*, estes foram submetidos a avaliação da atividade nematicida (eclosão de juvenis de segundo estádio (J2) frente aos nematoides da espécie *M. javanica*.

As análises de eclosão de juvenis (J2) (testes in vitro) de *M. javanica* foram feitas utilizando 10 mg do extrato bruto (EB) e das frações hexano (FHEX), diclorometano (FDM), acetato de etila (FAE) e butanol (FBUT) em uma solução de 20 mL de água e DMSO a 1,5% (concentração de 500 µg mL⁻¹). Já como controles foram utilizados água e água + DMSO 1,5%. Uma população pura do nematoide *M. javanica* foi extraída de raízes de tomateiro cv. Santa Clara, obtendo-se uma população de 400 ovos em cada mL. As unidades experimentais constituíram-se em tubos de Falcon, e cada tudo recebeu 1 mL contendo 400 ovos de *M. javanica*, e 3 mL da suspensão contendo os tratamentos. Os tubos foram incubados a 27°C em BOD por 14 dias, e, após esse período, avaliou-se o número de juvenis eclodidos e ovos remanescentes, calculando-se a porcentagem de eclosão (%), sendo a mesma calculada pela fórmula: % de eclosão = [número de J2 eclodidos / (número de J2 eclodidos + número de ovos remanescentes)] x 100. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância, e as médias comparas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, pelo programa SISVAR (FERREIRA, 2014).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito nematicida do extrato bruto (EB) e das frações FHEX, FDM, FAE e FBUT de *P. angustifolium* foi testado utilizando uma concentração de 500 µg mL⁻¹. As médias foram analisadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade, sendo que os valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si e os resultados estão descritos na tabela 1.

Tabela 1: Porcentagem de eclosão de juvenis de segundo estádio (J2) e de ovos remanescentes de *M. javanica* submetidos ao extrato bruto e frações de *P. angustifolium* na concentração de 500 µg mL⁻¹

Tratamentos	Ovos remanescentes (%)	Eclosão de J2 (%)
T1 - Água	38,80 c	61,20 a
T2 - Água + DMSO 1,5%	12,79 a	87,21 c
T3 - EB	28,84 b	71,16 b
T4 - FHEX	25,41 b	74,59 b
T5 - FDM	34,01 c	65,99 a
T6 - FAE	25,77 b	74,23 b
T7 - FBUT	21,50 b	78,50 b
Coeficiente de variação (%)	28,34	11,34
Erro padrão	2,86	2,86

Fonte: Dados da pesquisa

Pela análise da tabela 1 observa-se que a porcentagem de eclosão em água (testemunha 1) 14 dias após a incubação foi de 61,20% e Água + DMSO 1,5% foi de 87,21 % (testemunha 2), sendo que estes valores foram considerados como a porcentagem de eclosão padrão nesse experimento. Os tratamentos EB, FHEX, FDM, FAE e FBUT exibiram

valores estatisticamente parecidos com os controles, sendo assim, não apresentaram atividade nematicida.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após a análise dos resultados conclui-se que apesar das espécies de *Pterocaulon* apresentarem atividades biológicas, a espécie *P. angustifolium* não apresenta atividade nematicida, portanto não é indicada para o controle dos nematoides das galhas.

REFERÊNCIAS

- CHITWOOD, D. J. Phytochemical based strategies for nematode control. **Annual Review of Phytopathology**, v. 40, p. 221–249, 2002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12147760>. Acesso em: 1 jun. 2010.
- DECRAEMER, W.; HUNT, D. J. Structure and classification. In: PERRY, R. N.; MOENS, M. (Org.). **Plant Nematology**, 2nd edition, CABI Publishing, p. 3-37, 2013.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: A Guide for its Bootstrap procedure in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 38, n. 2, p. 109-112, mar.-abr. 2014. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542014000200001. Acesso em: 18 jan. 2019.
- LIMA, L. F. P.; MATZENBACHER, N. I. O gênero *Pterocaulon* Ell. (Asteraceae – Plucheeae) no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **IHERINGIA**, Sér. Bot., Porto Alegre, v. 63, n. 2, p. 213-229, jul.-dez. 2008. Disponível em: http://www.fzb.rs.gov.br/upload/20140328113718ih63_2_p213_230.pdf. Acesso em: 14 abr. 2017.
- MEDEIROS-NEVES, B.; TEIXEIRA, H. F.; VON POSER, G. L. The genus *Pterocaulon* (Asteraceae) – A review on traditional medicinal uses, chemical constituents and biological properties **Journal of Ethnopharmacology**, v. 224, p. 451–464, jun. 2018. Disponível em: <https://europepmc.org/abstract/med/29913300>. Acesso em: 10 jul. 2018.
- NGUYEN, L. T. T. et al. Nematicidal activity of verrucarin A and roridin A isolated from *Myrothecium verrucaria* against *Meloidogyne incognita*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 148, p. 133–143, jun, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29891364/>. Acesso em: 10 jul. 2018.
- RAVICHANDRA, N. G. **Horticultural Nematology**, Springer, 2014.
- VIANNA, D. R. et al. Selective cytotoxicity and apoptosis induction in glioma cell lines by 5-oxygenated-6,7-methylenedioxycoumarins from *Pterocaulon* species. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 57, p. 268-274, nov. 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23069682>. Acesso em: 10 jul. 2018.
- WESEMAEL, W. M. L.; VIAENE, N.; MOENS, M. Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in Europe. **Nematology**, v. 13, n. 1, p. 3-16, jan, 2011.